

氏 名	篠 田 英 二
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2100 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Tissue Factor Pathway Inhibitor-2 is a novel mitogen for vascular smooth muscle cells
	(組織経路インヒビター 2 は血管平滑筋細胞の新しい増殖因子である)
	(主査)
論文調査委員	教授 難波雄二郎 教授 野田 亮 教授 篠山重威

論 文 内 容 の 要 旨

動脈硬化や経皮的冠動脈形成術後の再狭窄には血管平滑筋細胞の増殖が密接に関与するが、その詳細なメカニズムは不明である。

血管内皮細胞の平滑筋細胞増殖に与える影響を見るため、Co-cultureによる予備実験を行ったところ、培養血管内皮細胞は血管平滑筋細胞を増殖させる因子を分泌していると推定された。

濃縮した血管内皮細胞培養上清より、5-bromo-2'-deoxyuridine取込みによる血管平滑筋細胞のDNA合成能を指標にして、ヘパリンアフィニティクロマトグラフィ、逆相HPLCにより、血管平滑筋細胞のDNA合成を促進する分子量32000のタンパク質が精製された。これはペプチド分析によりTissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI 2)/placental protein 5であることが判明した。TFPI 2は、Kunitz型のセリンプロテアーゼインヒビターであり、その生理機能は今まで不明であった。

その機能を確認、解析するために、TFPI 2をbaby hamster kidney細胞に発現させ、recombinant TFPI 2 (rTFPI 2)を作成した。rTFPI 2は容量依存性に血管平滑筋細胞のDNA合成と細胞数を増加させた(1-500nM)。

また、二重にリン酸化されたmitogen-activated protein kinase (MAPK) に対する特異的抗体を用いたウエスタンブロット分析により、rTFPI 2による刺激は、血管平滑筋細胞においてMAPKを活性化することが示された。

さらに、rTFPI 2による刺激は、血管平滑筋細胞において、c-fosプロモーター活性を増加させることがルシフェラーゼアッセイにより示され、またc-fosの発現を誘導することが、ノーザンブロット分析により示された。

これらの効果はMAPK kinase (MAPKK) の特異的インヒビターであるPD098059により容量依存性に抑制された。これはTFPI 2の血管平滑筋細胞に対する増殖刺激作用が、MAPKの活性化とc-fosの発現を介することを示唆する。

TFPI 2は血管内皮細胞が分泌する血管平滑筋細胞の新しいmitogenであり、その増殖刺激はMAPKの活性化とc-fosの発現を介して伝達される。一方、相同性のあるTissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) については、逆に血管平滑筋細胞の増殖抑制、動物モデルでバルーン傷害後の内膜肥厚の抑制が報告されている。これら2つの蛋白質により、血管平滑筋細胞の増殖を調節する新しいメカニズムが存在するのかもしれない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

動脈硬化や経皮的冠動脈形成術後の再狭窄には血管平滑筋細胞の増殖が密接に関与するが、その詳細なメカニズムは不明である。

Co-cultureによる予備実験にて培養血管内皮細胞は血管平滑筋細胞を増殖させる因子を分泌していると推定された。

濃縮した血管内皮細胞培養上清より、血管平滑筋細胞のDNA合成能を指標にして、血管平滑筋細胞のDNA合成を促進する分子量32000のタンパク質が精製された。これはペプチド分析によりTissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI 2)であることが判明した。TFPI 2の生理機能は今まで不明であった。

その機能を確認、解析するために、TFPI 2をbaby hamster kidney細胞に発現させ、recombinant TFPI 2 (rTFPI 2)を作成した。rTFPI 2は容量依存性に血管平滑筋細胞のDNA合成と細胞数を増加させた。

rTFPI 2による刺激は、血管平滑筋細胞においてmitogen-activated protein kinase (MAPK)を活性化すること、c-fosプロモーター活性を増加させること、またc-fosの発現を誘導することが示された。

以上の研究は血管平滑筋細胞の新しい増殖因子の解明に貢献し、動脈硬化の基礎研究に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年2月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。